

Determinasi Dosis Letal Efek Larvasida Ekstrak Kulit Jeruk Siam (*Citrus suhuinensis*) terhadap Larva Nyamuk *Aedes Aegypti*

Lethal Dose Determination of Larvacide Effect of Citrus suhuinensis Peel Extract on Aedes Aegypti Larvae

Wahyu Eko Prabowo¹, Erma Sulistyaningsih^{2*}, Dwita Aryadina Rachmawati³.

¹Faculty of Medicine, University of Jember, Jember, Indonesia

²Department of Parasitology, University of Jember, Jember, Indonesia

³Department of Public Health, University of Jember, Jember, Indonesia

Article Info

Article History:

Received: January 04, 2023

Accepted: April 18, 2023

Published: June 30, 2023

^{*} Corresponding author:

E-mail: sulistyaningsih.fk@unej.ac.id

How to cite this article:

Prabowo W.E., Sulistyaningsih E., Rachmawati D.A., 2022. Determinasi Dosis Letal Efek Larvasida Ekstrak Kulit Jeruk Siam terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*. 2023. 9(2): 70-

<https://doi.org/10.19184/ams.v9i2.33098>

Abstrak

Demam berdarah *dengue* (DBD) adalah penyakit infeksi yang endemis di Indonesia. Penyakit ini disebabkan oleh virus *dengue* dan ditularkan oleh vektor nyamuk *Aedes aegypti*. Pengendalian vektor merupakan upaya penting dalam mengontrol DBD. Kulit jeruk siam (*Citrus suhuinensis*) mempunyai kandungan zat aktif yang mampu berpotensi membunuh larva nyamuk seperti zat saponin, tanin, flavonoid, serta D-limonen. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efektifitas dan dosis letal ekstrak kulit jeruk siam sebagai larvasida nyamuk *Ae aegypti*. Desain penelitian eksperimental dengan *randomized control-group posttest design* dilakukan menggunakan larva nyamuk *Ae aegypti* instar III dan IV yang terbagi menjadi 10 kelompok yaitu: kontrol positif (abate), kontrol negatif, kelompok perlakuan dengan dosis bertingkat 0,01, 0,02, 0,04, 0,06, 0,25, 0,50, 0,75 dan 1 %. Setiap kelompok terdiri dari 25 larva. Pengamatan kematian larva dilakukan setelah 24 dan 48 jam perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk siam mempunyai sifat larvasida sesuai dengan dosis letalnya, yaitu LD50 sebesar 5,77 %, LD95 sebesar 9,34 % dan LD99 sebesar 11,39 %. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit jeruk siam berpotensi sebagai larvasida *Ae aegypti*.

Kata kunci: *Aedes aegypti*, *Citrus suhuinensis*, Demam berdarah, Dosis letal

Abstract

Dengue hemorrhagic fever (DHF) is an endemic infectious disease in Indonesia. This disease is caused by dengue virus and transmitted by Aedes aegypti as a vector. Vector control is an important approach to control DHF. Citrus suhuinensis contains active compounds such as saponins, tannins, flavonoids, and D-limonene that can kill Ae aegypti larvae. This study aimed to determine the effectivity and lethal dose of C. suhuinensis peel extract against Ae aegypti larva. This was an experimental study using randomized control-group posttest design on Ae aegypti instar III and IV larvae which were divided into 10 groups, i.e., positive control, negative control, 8 treatment groups of serial doses of 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.25, 0.50, 0.75 and 1 %. Each group consisted of 25 larvae. Observations on the larvae were conducted after 24 and 48 hours of treatment. The results showed that C. suhuinensis peel extract has larvicide effect as shown by the Lethal Dose value, i.e., LD50, LD95 and LD99 were 5.77, 9.34 and 11.39%, respectively. In conclusion, the C. suhuinensis peel extract has potential as an Ae aegypti larvacide.

Keywords: *Aedes aegypti*, *Citrus suhuinensis*, Dengue fever, Lethal Dose



Pendahuluan

Demam Berdarah *Dengue* (DBD) atau *Dengue Haemorrhagic Fever*) adalah penyakit infeksi yang ditularkan oleh gigitan nyamuk dan umumnya ditemukan di daerah tropis dan subtropis, terutama di daerah perkotaan. Indonesia sejak 2013 telah memasukkan demam berdarah sebagai salah satu penyakit menular yang mematikan (Dania, 2016). Selama lima puluh tahun terakhir, infeksi DBD terus meningkat 30 kali lipat (Sholihah et al., 2020). Pada 2019, jumlah infeksi DBD di Indonesia mencapai 112.954 kasus (Arisanti & Suryaningtyas, 2021)

DBD disebabkan oleh virus dengue yang terbagi menjadi 4 serotipe, yaitu Den-1, Den-2, Den-3 dan Den-4, semua serotipe ada di Indonesia, Den-3 merupakan serotipe terbanyak (Fajarani et al., 2020). DBD memiliki masa inkubasi 3-14 hari dalam tubuh manusia (Trovancia et al., 2016).

Nyamuk *Ae aegypti* merupakan vektor utama penularan virus dengue, berkembang biak di lingkungan padat penduduk yang memiliki genangan air bersih seperti pada kaleng bekas, bak mandi, ember (Syamsir et al., 2020). Nyamuk *Ae. aegypti* saat bertelur, nyamuk betina mampu menghasilkan hingga 100 butir telur, sehingga dapat berkembang biak dengan cepat (Kusuma & Sukendra, 2016). Pengendalian vektor dengan cara tradisional menimbun, mengeringkan dan menutup masih belum sepenuhnya efektif, sementara menggunakan bahan kimia seperti semprotan pengusir nyamuk dan penggunaan abate terkadang menimbulkan efek samping. Oleh karena itu, dibutuhkan lebih banyak bahan alami seperti kulit jeruk.

Indonesia merupakan produsen jeruk siam (*Citrus Suhuensis*) yang melimpah, pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa kulit jeruk mengandung beberapa zat aktif yang dapat membunuh jentik nyamuk seperti saponin, tanin, flavonoid, dan D-limonene (Nirma et al., 2017).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek larvasida ekstrak kulit jeruk siam terhadap larva nyamuk *Ae aegypti* dan menentukan dosis letalnya.

Metode

Desain Penelitian

Penelitian ini adalah studi eksperimental dengan desain *randomized control-group posttest design*. Sampel penelitian berupa larva nyamuk *Ae aegypti* instar III dan IV, dipilih karena merupakan bentuk larva yang paling lengkap dan sempurna organnya sehingga paling cocok untuk penelitian larvasida. Sampel dipilih berdasarkan metode *simple random sampling*, dengan menggunakan kriteria inklusi, yaitu larva yang sehat dan aktif bergerak.

Ekstrak Kulit Jeruk Siam

Pembuatan ekstrak diawali dengan pemilihan kulit buah jeruk dari jeruk yang berukuran sedang dengan berat total sekitar 5 kg. Kulit jeruk dipotong-potong dan dicuci, kemudian dikeringkan selama 3 hari dan dioven pada suhu 45 °C untuk mengurangi kadar airnya. Kulit jeruk dihaluskan dengan blender, diayak untuk memisahkan serbuk halus dengan yang kasar. Dari pengayakan tersebut didapatkan 500 g serbuk halus.

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi. Sebanyak 100 g serbuk simplisia dimasukkan kedalam botol kaca yang

berfungsi sebagai maserator dicampurkan dengan 1000 ml etanol 95 % dengan skala perbandingan 1/10, diaduk setiap 8 jam, serta didiamkan selama 3 hari, total ada 5 botol yang dibuat oleh peneliti. Setelah itu ekstrak disaring dengan kertas saring untuk selanjutnya dilakukan evaporasi menggunakan *waterbath* untuk mengurangi kadar etanolnya. Dari 1000 ml ekstrak pada setiap botol mendapatkan sekitar 10 g ekstrak kental, sehingga total didapatkan 50 g ekstrak.

Perlakuan

Penelitian dilakukan dengan membagi kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Kelompok perlakuan terdiri atas dosis ekstrak kulit jeruk 0,01 %, 0,02 %, 0,03 %, 0,04 %, 0,25 %, 0,50 %, 0,75 %, dan 1 %. Sedangkan kelompok kontrol positif menggunakan abate dan kontrol negatif menggunakan aquades. Setiap kelompok eksperimen terdiri dari 25 larva sesuai dengan standar WHO untuk penelitian larvasida serta volume cairan maksimal 100 ml.

Penelitian ini menggunakan data primer. Data dikumpulkan dengan menghitung dan mengamati larva uji yang mati pada setiap kelompok setelah 24 jam dan 48 jam perlakuan. Data antara kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan negatif untuk melihat tingkat efektifitas serta dosis letalnya.

Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan software SPSS versi 24.0. Data diuji normalitasnya dengan *Shapiro Wilk test* dan homogenitas menggunakan *Levene test*. Penentuan dosis letal LD50, LD95 dan LD99 diuji dengan analisis probit.

Persetujuan etik

Penelitian ini sudah mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Jember dengan nomor 1.570/H25.1.11/KE/2021.

Hasil

Hasil penghitungan kematian *Ae aegypti* setelah pemberian ekstrak kulit jeruk siam pada dosis 0,01 - 0,06 % selama 24 jam dan 48 jam serta dosis 0,25 - 1 % selama 24 jam dapat dilihat pada Tabel 1.

Hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas dengan *Levene test* dapat dilihat pada Tabel 2. Dari data tersebut menunjukkan karakteristik data tidak normal dan tidak homogen.

Hasil analisis probit untuk melihat hasil LD50, LD95, dan LD99 dapat dilihat pada Tabel 3. Data yang digunakan untuk analisis probit adalah data dosis 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,25, 0,50, 0,75, dan 1 % pada 24 jam awal, sebagai penilaian dalam uji toksisitas akut (BPOM, 2022). Tabel 3 menunjukkan nilai LD50 (dosis ekstrak kulit jeruk siam yang mampu membunuh 50 % dari larva uji nyamuk *Ae aegypti* setelah uji 24 jam) adalah 5,77 %, dengan range dosis 5,35 - 6,2 %. Sedangkan LD95 (dosis yang mampu membunuh 95 % larva uji) adalah 9,34 %, dengan range dosis 8,2 - 11,6 %. Nilai LD99 (dosis yang mampu membunuh 99 % larva uji) menunjukkan angka 11,39 %, dengan range dosis 9,6 - 15,3 %.

Tabel 1 Jumlah kematian larva *Ae aegypti* pada berbagai dosis ekstrak kulit jeruk siam setelah 24 dan 48 jam

Dosis(%)	Rata-rata Kematian Larva	
	24 jam	48 jam
0,01	0,00	0,25
0,02	0,50	1,75
0,04	0,00	3,75
0,06	0,75	4,00
0,25	11,5	-
0,50	14,5	-
0,75	19,00	-
1	20,00	-
Kontrol +	19,00	-
Kontrol -	0,00	0,00

Tabel 2. Hasil uji normalitas dan homogenitas

Dosis (%)	Uji Normalitas (sig)	Uji Homogenitas (sig)
0,01-0,06/24 jam	0,025	0,007
0,01-0,06/48 jam	0,001	0,177
0,01-1%/24 jam	0,024	0,001

Tabel 3 Hasil analisis probit LD 50, LD95 dan LD99

Probability	Confidence Limits					
	95% Confidence Limits for Dosis			95% Confidence Limits for log(Dosis)		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
.50	5.77	5.35	6.22	.76	.73	.79
.95	9.34	8.23	11.62	.97	.92	1.06
.99	11.39	9.64	15.38	1.06	.98	1.19

Pembahasan

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk siam mempunyai sifat larvasida sehingga dapat digunakan sebagai pendekatan alternatif untuk menekan jumlah vektor demam berdarah. Kulit jeruk siam memiliki beberapa kandungan zat aktif seperti *saphonin*, *flavonoid*, *D-limonen* dan *tannin*. Zat tersebut bersifat racun pada larva dan secara alami ada pada tumbuhan, akan tetapi cenderung lebih aman bagi mamalia (Adrianto et al., 2014).

Saponin juga mempunyai efek larvasida yaitu memiliki kemampuan untuk menembus lapisan membran sel (Yuliana et al., 2021). Sifat zat ini membentuk ikatan dengan lipid pada membran sel larva, hingga mampu mengubah struktur kimianya. Perubahan struktur kimia pada membran sel ini dapat menyebabkan terserapnya air kedalam sel (osmosis), hingga dapat menyebabkan sel tersebut lisis (Ramayanti & Febriani, 2016).

Flavonoid bekerja dengan cara melumpuhkan sistem saraf pernapasan pada serangga/larvanya. Turunan dari senyawa

flavonoid adalah rotelon yang dapat menghambat enzim pernapasan sehingga membuat kegagalan sistem pernapasan (Nurhaifah & Sukesi, 2015).

D-limonen merupakan suatu senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak kulit jeruk, mempunyai aroma yang khas sehingga tidak disukai oleh nyamuk. Selain itu juga mempunyai sifat larvasida dengan cara mengganggu sistem saraf sensoris perifer pada larva, sehingga membuat larva kurang menyadari sesuatu yang terjadi, larva yang terkena efek dari zat ini akan membuat larva mempunyai gerak yang lambat dalam merespon suatu ancaman, hal tersebut karena zat aktif ini merusak sistem saraf sensoris pada larva, sehingga larva sulit untuk mencerna informasi yang diterima (membutakan larva). Kematian akibat zat ini akan membuat larva mengkerut karena efek kontraksi dari rusaknya saraf (Saleh et al., 2017).

Tanin adalah zat aktif antioksidan yang termasuk dalam golongan polifenol yang mudah teroksidasi menjadi asam tanat. Tanin merupakan zat yang bermanfaat bagi manusia karena zat ini dapat berkontribusi untuk mencegah kerusakan yang di timbulkan oleh efek negatif yang di sebabkan oleh berbagai

macam radikal bebas, seperti kerusakan sel dan jaringan. Pada tanaman dan buah-buahan tanin berkontribusi dalam memberikan rasa pahit. Tanin mempunyai efek larvasida yaitu dapat mengganggu proses pencernaan pada larva (Yuliasih & Widawati, 2017). Menghalangi larva untuk menyerap nutrisi dari makanan yang di peroleh. Mengakibatkan pertumbuhan larva terganggu, dan larva tidak bisa melakukan molting (berganti kulit), hingga akhirnya mati akibat kekurangan nutrisi (Purnamasari et al., 2017).

Larva yang mati pada penelitian ini tampak mengembang, pucat dan terdapat luka pada kulitnya. Hal tersebut disebabkan oleh zat saponin yang terdapat pada kandungan ekstrak kulit jeruk. Saponin merusak membran sel pada kulit larva hingga membuat air yang ada di sekitar berpindah ke ruang intrasel hingga akhirnya lisis. Hal tersebut dapat ditandai dengan melihat struktur kulit larva yang rusak dan berlubang-lubang dan berwarna pucat serta membengkak yang diakibatkan air dari lingkungan sekitar yang masuk kedalam tubuh larva melalui proses osmosis karena hilangnya tekanan interseluler karena kerusakan membran sel pada tubuh larva. Selain itu juga dapat diamati dari keadaan larva yang telah mati banyak diantaranya tenggelam serta tidak memendek, hal tersebut menunjukkan efek flavonoid pada kandungan ekstrak kurang memberikan pengaruh.

Kandungan tannin pada ekstrak juga menunjukkan efek pada larva. Hal ini ditunjukkan dengan kondisi larva pada dosis yang lebih tinggi yaitu 0,06 % lebih sedikit yang mengalami *molting* (pergantian kulit) daripada larva pada dosis 0,01 %. Larva pada dosis 0,06 % mengalami gangguan tumbuh kembang yang disebabkan oleh terganggunya sistem pencernaan.

Dosis letal ekstrak kulit jeruk siam pada penelitian ini adalah LD50 bernilai 5,77 %, untuk LD95 berada di angka 9,34 % serta LD99 sebesar 11,39 %. LD50 menjadi dosis yang paling tepat pada uji toksisitas akut karena hanya menyebabkan kematian 50 % populasi sampel dan angkanya cenderung lebih stabil (Assagaf et al., 2013)

Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan yang terdapat dalam kulit jeruk siam (*Citrus suhuinensis*) mempunyai efek larvasida terhadap *Ae aegypti* sesuai dengan penghitungan dosis letalnya, dimana LD50 sebesar 5,77 %, LD95 sebesar 9,34 % serta LD99 sebesar 11,39 %.

Konflik Kepentingan

Para penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian ini

Ucapan Terima Kasih

Penulis berterima kasih kepada Laboratorium Farmakologi Universitas Jember dan Laboratorium Entomologi *Institute of Tropical Disease* UNAIR yang telah memberikan kesempatan, tempat dan fasilitas kepada peneliti untuk melakukan penelitian.

Kontribusi Penulis

WEP berkontribusi dalam melakukan penelitian, mengumpulkan dan menganalisis data, menyusun draft naskah. ES berkontribusi dalam memberikan ide penelitian, menyusun kerangka konsep, metode penelitian, menganalisis data dan memfinalisasi naskah. DAR berkontribusi dalam metode penelitian dan memfinalisasi naskah.

Referensi

- Adrianto, H., Yotopranoto, S., & Hamidah. (2014). Efektivitas ekstrak daun jeruk purut. *Aspirator*, 6(1), 1–6. <https://ejournal2.litbang.kemkes.go.id/index.php/aspirator/article/view/4535>
- Arisanti, M., & Suryaningtyas, N. H. (2021). Kejadian Demam Berdarah Dengue (Dbd) Di Indonesia Tahun 2010-2019. *Spirakel*, 13(1), 34–41. <https://doi.org/10.22435/spirakel.v13i1.5439>
- Assagaf, F., Wullur, A., & Yudistira, A. (2013). Uji toksisitas akut (lethal dose 50) ekstrak etanol daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.) terhadap tikus putih jantan galur Wistar (*Rattus norvegicus* L.). *Pharmacocon Jurnal Ilmiah Farmasi Unsrat*, 2(01), 23–28.
- BPOM. (2022). *BPOM NO.10 Tahun 2022 Uji Toksisitas Praktikal secara in vivo*. 490. <https://peraturan.bpk.go.id/Home/Details/223969/peraturan-bpom-no-10-tahun-2022>
- Dania, I. A. (2016). Gambaran Penyakit dan Vektor Demam Berdarah Dengue (DBD) Perguruan tinggi di Medan, Sumatera Utara. *Jurnal Warta*, 48(1), 1–15. <https://media.neliti.com/media/publications/290766-gambaran-penyakit-dan-vektor-demam-berdarah-3625d.pdf>
- Fajarani, R., Martini, & Adi, M. S. (2020). Gambaran Variasi Serotipe Virus Dengue Pada Pasien Infeksi Dengue Di Kota Semarang Tahun 2019. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 8(1), 169–176. <https://doi.org/10.14710/jkm.v8i1.26065>
- Kusuma, A. P., & Sukendra, D. M. (2016). Analisis Spasial Kejadian Demam Berdarah Dengue Berdasarkan Kepadatan Penduduk. *Unnes Journal of Public Health*, 5(1), 48. <https://doi.org/10.15294/ujph.v5i1.9703>
- Nirma, Susilawaty, A., Ibrahim, H., & Amansyah, M. (2017). Efektivitas Larvasida Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Dalam Membunuh Jentik Nyamuk *Aedes* sp (Studi di Daerah Epidemi DBD di Wilayah Kerja Puskesmas Antang Kecamatan Manggala). *HIGIENE: Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 3(2), 87–96. <https://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/higiene/article/view/3700>
- Nurhaifah, D., & Sukesu, T. W. (2015). Efektivitas Air Perasan Kulit Jeruk Manis sebagai Larvasida Nyamuk *Aedes aegypti*. *Kesmas: National Public Health Journal*, 9(3), 207. <https://doi.org/10.21109/kesmas.v9i3.566>
- Purnamasari, M. R., Sudarmaja, I. M., & Swastika, I. K. (2017). Potensi Ekstrak Etanol Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* roxb.) sebagai Larvasida Alami bagi *Aedes*

- aegypti. *E-Jurnal Medika*, 6(3), 1–8. <http://ojs.unud.ac.id/index.php/eum>
- Ramayanti, I., & Febriani, R. (2016). Uji Efektivitas Larvasida Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* Linn) terhadap Larva *Aedes aegypti*. *Syifa' MEDIKA: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 6(2), 79. <https://doi.org/10.32502/sm.v6i2.1383>
- Saleh, M., Susilawaty, A., Syarfaini, S., & Musdalifah, M. (2017). Uji Efektivitas Ekstrak Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Sebagai Insektisida Hayati Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 3(1), 30–36. <https://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/higiene/article/view/2761>
- Sholihah, N. A., Weraman, P., & Ratu, J. M. (2020). Analisis Spasial dan Pemodelan Faktor Risiko Kejadian Demam Berdarah Dengue Tahun 2016-2018 di Kota Kupang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 15(1), 52. <https://doi.org/10.26714/jkmi.15.1.2020.52-61>
- Syamsir, S., Daramusseng, A., & Rudiman, R. (2020). Autokorelasi Spasial Demam Berdarah Dengue di Kecamatan Samarinda Utara, Kota Samarinda. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*, 19(2), 119–126. <https://doi.org/10.14710/jkli.19.2.119-126>
- Trovancia, G., Sorisi, A., & Tuda, J. S. B. (2016). Deteksi transmisi virus dengue pada nyamuk wild *Aedes Aegypti* betina di Kota Manado. *Jurnal E-Biomedik*, 4(2). <https://doi.org/10.35790/ebm.4.2.2016.14661>
- Yuliana, A., Rinaldi, R. A., Rahayuningsih, N., & Gustaman, F. (2021). Efektivitas Larvasida Granul Ekstrak Etanol Daun Pisang Nangka (*Musa x paradisiaca* L.) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. *ASPIRATOR - Journal of Vector-Borne Disease Studies*, 13(1), 69–78. <https://doi.org/10.22435/asp.v13i1.4042>
- Yuliasih, Y., & Widawati, M. (2017). Aktivitas Larvasida Berbagai Pelarut pada Ekstrak Biji Kayu Besi Pantai (*Pongamia pinnata*) terhadap Mortalitas Larva *Aedes* spp. *Balaba: Jurnal Litbang Pengendalian Penyakit Bersumber Binatang Banjarnegara*, 13(2), 125–132. <https://doi.org/10.22435/blb.v13i2.5807.125-132>